

**STUDI PREVENTIF EKSTRAK DAUN CINCAU
HIJAU (*Premna oblongifolia* Merr) TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM LIPOPROTEIN LIPASE
DAN HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS
(*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DENGAN DIET TINGGI LEMAK**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
LAURENSIUS ARDI SABATINO
115130107111008



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**STUDI PREVENTIF EKSTRAK DAUN CINCAU
HIJAU (*Premna oblongifolia* Merr) TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM LIPOPROTEIN LIPASE
DAN HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS
(*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
DENGAN DIET TINGGI LEMAK**

**Oleh:
LAURENSIUS ARDI SABATINO
115130107111008**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 17 Januari 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Prof.Dr.Aulanni'am,drh.,DES
NIP. 196009031988022001

Dr. Dra. Herawati, MP
NIP.195801271985032001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 196009031988022001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Laurensius Ardi Sabatino

NIM : 115130107111008

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Studi Preventif Pemberian Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna oblongiflofolia merr*) Terhadap Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase dan Histopatologi Jantung Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi dengan Diet Tinggi Lemak

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 17 Januari 2018

Yang menyatakan,

(Laurensius Ardi Sabatino)

NIM. 115130107111008

**Studi Preventif Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr)
Terhadap Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase dan Histopatologi
Jantung pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*)
yang Diinduksi dengan Diet Tinggi Lemak**

ABSTRAK

Hiperlipidemia merupakan suatu kondisi fisiologis yang ditandai dengan tingginya kadar lipid di dalam darah akibat faktor keturunan atau konsumsi lemak berlebihan, kondisi ini merupakan salah satu faktor penyebab timbulnya berbagai penyakit berbahaya seperti gagal jantung dan gangguan ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh preventif pemberian ekstrak daun cincau hijau terhadap gambaran histopatologi organ jantung dan aktivitas enzim Lipoprotein Lipase (LPL). Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan 150-200gram. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan 3 kelompok terapi pencegahan dengan dosis 1,35g/ekor/hari, 2,7g/ekor/hari, dan 5,4g/ekor/hari. Diet hiperlipidemia menggunakan lemak sapi, mentega, dan kuning telur puyuh dan diberikan selama 14 hari sebanyak 2ml/ekor melalui sonde lambung. Penentuan aktivitas enzim LPL dilakukan dengan metode titrasi enzimatik dan gambaran histopatologi jantung diamati secara kualitatif menggunakan mikroskop BX51. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun cincau hijau memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap aktivitas enzim LPL tikus antar kelompok perlakuan dan mampu mencegah kerusakan jaringan pada organ jantung tikus yang ditandai dengan perbedaan struktur miokardium masing-masing perlakuan dengan dosis efektif 27g/kgBB. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun cincau hijau dapat digunakan sebagai preventif alternatif pada tikus hiperlipidemia.

Kata kunci: Hiperlipidemia, Aktivitas LPL, Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr), Histopatologi jantung

**Preventive Study of Green Grass Leaves Extract (*Premna oblongifolia* Merr)
Against Lipoprotein lipase Enzyme Activity and Histopathology of
Heart in Animal Model Rat (*Rattus norvegicus*)
Induced by High Fat Diet**

ABSTRACT

Hyperlipidemia is a physiology condition showed by high level of lipid in the blood caused by hereditary factor or overly high consume of fat, this condition is a factor that cause various severe disease like heart failure and kidney disorders. This study was aim to determine preventif effect of green grass leaves extract against histopathology images of heart and lipoprotein lipase(LPL) enzyme activity. This study using male rats (*Rattus norvergicus*) with body weight 150-200gram. Rats were divided to 5 groups, negative control group, positive control group, and 3 preventive group with 1,35g/rat/day, 2,7g/rat/day, and 5,4g/rat/day. Hyperlipidemia diet was using cow fat, butter, and quail egg yolk and given for 14 days as much as 2ml/rat through gut. Lipoprotein lipase activity were measured using titration method and histopathology images of heart observed qualitatively using BX51 microscope. The result showed that green grass leaves extract give significant differences ($p<0,05$) against LPL enzyme activity in rat between groups and could prevent tissue damages rat hearts which showed by difference in myocardium structure in each treatment with most effective dosage 27g/kgBB. The conclusion of this study is green grass leaves extract can be used as an alternative prevention in hyperlipidemia rat.

Keywords: Hyperlipidemia, LPL activity, Green grass (*Premna oblongifolia* Merr), Histopathology of heart

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa penulis haturkan karena atas berkah dan rahmatNya sehingga mampu menyelesaikan tugas sarjana yang berjudul “Studi Preventif Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* merr) Terhadap Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase dan Histopatologi Jantung pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi dengan Diet Tinggi Lemak”. Selama penyusunan tugas sarjana ini telah melibatkan banyak pihak sehingga penulis mengucapkan terima kasih kepada:

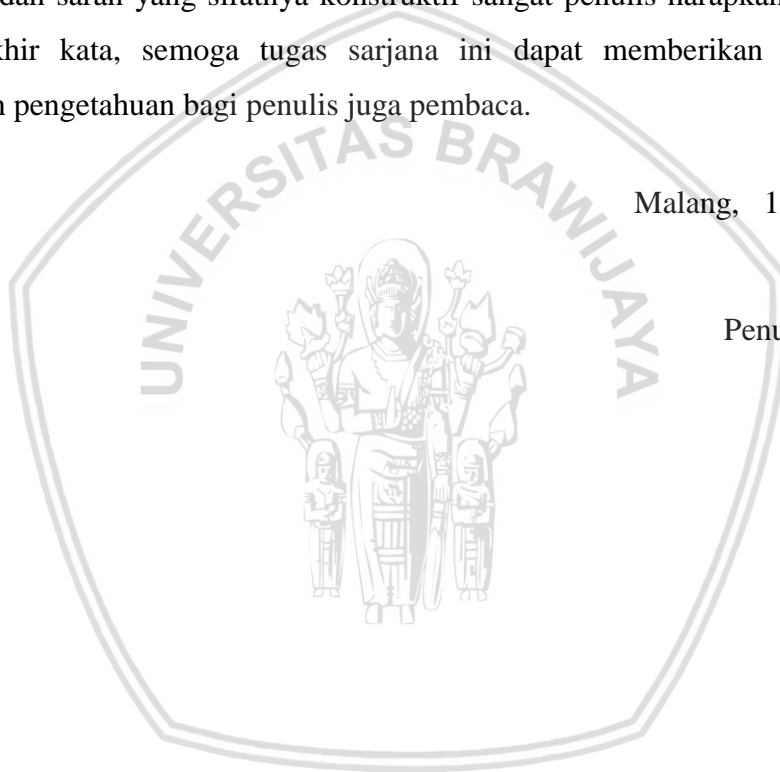
1. Prof. Dr. Aulani'am, drh., DES selaku dekan dan dosen pembimbing satu yang telah tulus ikhlas membimbing penulis.
2. Dr. Dra. Herawati, MP selaku dosen pembimbing dua yang telah tulus ikhlas memberikan waktu, kesabaran, dan motivasi serta bimbingan bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. drh. Beta Purnama Sari, M.Si selaku penguji satu yang bersedia memberikan waktu, kesabaran, dan motivasi serta bimbingan bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc selaku penguji dua yang bersedia memberikan saran dan kritiknya demi kemajuan penulisan skripsi.
5. Orang tua penulis yang telah memberikan motivasi tiada henti dan berkorban segalanya
6. Michael Chrisna Sabatino dan Yosefin Adventa yang selalu memberi semangat dan dukungan dalam penulisan tugas akhir ini
7. Viviane Sherly yang selalu memberi semangat dan dukungan dalam penulisan tugas akhir ini
8. Keluarga besar VETASCLUB (*Veterinary A Student Class University of Brawijaya*)
9. Kolega FKH UB yang telah menjadi keluarga baru selama proses pendidikan di Kedokteran Hewan.

10. Teman seperjuangan yang telah membantu: Fadilla Asyiah R, Umi Ma'sumah, Eka Nora Vitaloka A, Muhammad Husni Rifa'I, Achmad Nurendy.
11. Serta semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan tugas sarjana ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini jauh dari kesempurnaan mengingat keterbatasan pengetahuan dan referensi yang penulis miliki. Oleh karena itu, kritik dan saran yang sifatnya konstruktif sangat penulis harapkan dari berbagai pihak. Akhir kata, semoga tugas sarjana ini dapat memberikan manfaat serta menambah pengetahuan bagi penulis juga pembaca.

Malang, 17 Januari 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ekstrak Cincau Hijau (<i>Premna oblongifolia</i> Merr)	6
2.2 Hewan Model Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	10
2.3 Hiperlipidemia	11
2.4 Enzim Lipoprotein lipase	14
2.5 Jantung	15
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL & HIPOTESIS PENELITIAN....	17
3.1 Kerangka Konseptual	17
3.2 Hipotesis Penelitian	19
BAB 4. METODE PENELITIAN	20
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	20
4.2 Alat dan Bahan	20
4.3 Tahapan Penelitian	21
4.4 Prosedur Kerja	22
4.4.1 Kerangka Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus	22
4.4.2 Persiapan Hewan Percobaan	24
4.4.3 Perlakuan Tikus Induksi dengan HFD	25
4.4.4 Perlakuan menggunakan Ekstrak Daun Cincau Hijau	25
4.4.5 Metode Euthanasi dan Pengambilan Organ Jantung	26
4.4.6 Pembuatan dan Pemeriksaan Preparat Histopatologi	26
4.4.7 Pengambilan Serum dan Pengukuran Aktivitas LPL	26
4.5 Analisa Data	27
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
5.1 Pengaruh Preventif Terhadap Aktivitas Enzim LPL	28

5.2 Pengaruh Preventif Terhadap Histopatologi Jantung.....	34
BAB 6. PENUTUP	40
6.1 Kesimpulan.....	40
6.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian	23



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	47
2. Pembuatan Preparat Histopatologi Jantung	48
3. Prosedur Pewarnaan HE.....	49
4. Perhitungan Dosis Cincau	51
5. Perhitungan Statistika	52
6. Perhitungan Peningkatan atau Penurunan Aktivitas Enzim LPL.....	54
7. Laik Etik Penelitian.....	55



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

%	: Presentase
μ L	: Mikro liter
μ m	: Mikro meter
ANOVA	: <i>One Way Analysis of Varians</i>
BB	: Berat Badan
bk	: Bahan Kering
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
BNJ	: Beda Nyata Jujur
dL	: desiLiter
g	: gram
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HE	: <i>Hematoksin-Eosin</i>
HFD	: <i>High-Fatty Diet</i>
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
kg	: Kilogram
LPL	: Lipoprotein lipase
mg	: Miligram
mL	: Mililiter
mm	: Mili meter
Na	: Atom Natrium
O	: Atom oksigen
$^{\circ}$ C	: Derajat celcius
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
TG	: Trigliserida
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

BAB I. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Hiperlipidemia merupakan kondisi fisiologis yang ditandai dengan tingginya kadar lemak dalam darah. Kondisi ini menyebabkan penderita memiliki resiko terserang penyakit berbahaya seperti gangguan jantung, gangguan ginjal, kesulitan bernafas, dan berbagai penyakit metabolis lainnya. Kurangnya kesadaran pemilik binatang peliharaan untuk menjaga asupan nutrisi hewan kesayangannya, meningkatkan resiko hewan mengalami kondisi hiperlipidemia (Atmarita,2005). Terjadinya hiperlipidemia pada hewan seperti anjing atau kucing lebih disebabkan oleh pakan tinggi lemak, limfoma, gagal jantung kongestif akibat dilatasi kardiomiopati dan pemberian obat tertentu (misalnya, kortikosteroid) (Rifa'is,2015).

Menurut Velayutham *et al.*, (2008) dalam Rifai (2015) hiperlipidemia adalah suatu keadaan yang disebabkan karena adanya kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan kadar trigliserida dan kolesterol dalam darah. Hiperlipidemia ditandai dengan konsentrasi trigliserida, kolesterol, atau keduanya yang tinggi dalam sirkulasi (Niho *et al.*, 2005). Terjadinya hiperlipidemia mengindikasikan penyerapan lipid yang berlebihan pada duodenum (Koike, 2004). Enzim yang berperan dalam hidrolisis trigliserida adalah enzim lipoprotein lipase, enzim ini dihasilkan oleh jaringan adiposa dan bekerja memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Pada kondisi hiperlipidemia enzim lipoprotein lipase akan menurun aktivitasnya karena tubuh tidak membutuhkan pemecahan trigliserida yang berasal dari cadangan lemak dalam tubuh. Trigliserida

dalam darah dibawa oleh VLDL (*Very Low-Density Lipoprotein*) dari hepar ke semua jaringan perifer termasuk ke jantung hal ini menyebabkan terjadinya penimbunan jaringan adiposa pada jantung. Jaringan adiposa yang terakumulasi di jantung akan meningkatkan resiko terjadinya arterosklerosis dan penyakit jantung koroner.

Meningkatnya resiko terserang penyakit mematikan tersebut memacu para peneliti untuk mencari obat yang ampuh karena usaha pengendalian hiperlipidemia yang dilakukan selama ini dengan memberikan latihan rutin agar hewan beraktivitas dan dengan mengatur nutrisi yang masuk dengan pemberian makanan rendah lemak dan mengurangi jumlah makanan yang diberikan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, beberapa obat diketahui dapat digunakan untuk menurunkan lipid. Obat-obatan paten tersebut antara lain golongan asam fibrat, resin, penghambat HMG-KoA reduktase (statin), dan asam nikotinat (niasin) sedangkan obat-obatan dari tumbuhan diantaranya adalah jati belanda, temulawak, daun jambu biji, kunyit dan mahkota dewa (Dalimartha, 2002).

Daun cincau dipilih sebagai preventif terhadap kondisi hiperlipidemia karena kandungan klorofilnya yang tinggi dan mudah ditemukan, menurut Kusharto, dkk (2008), bahwa daun cincau mempunyai kadar klorofil tertinggi (1709 ppm) dibandingkan daun tanaman lain yaitu murbei (884 ppm), katuk (1509 ppm), pegagan (832 ppm). Klorofil merupakan salah satu senyawa antioksidan yang terdapat dalam bahan makanan yang berasal dari tanaman hijau, senyawa ini berperan dalam pencegahan timbulnya berbagai reaksi patologis (Mindasari,

2010). Klorofil memiliki dua bagian yaitu cincin kompleks porfirin dan fitol. Fitol bersifat hidrofobik yang dapat menyebabkan penurunan timbunan lemak dalam darah sekaligus mencegah penyumbatan pembuluh darah (Limantara, 2009). Metode yang dapat digunakan untuk mendiagnosa hiperlipidemia adalah dengan pemeriksaan kadar trigliserida, LDL, dan kolesterol total. Tingginya antusias masyarakat terhadap pengobatan herbal menyebabkan dirasa perlunya dilakukan penelitian terhadap bahan-bahan herbal yang ada. Selain karena pengobatan herbal diketahui memiliki efek samping yang minimal dibandingkan dengan obat sintetis, bahan herbal juga mudah ditemukan. Salah satu bahan yang diketahui dapat digunakan adalah daun cincau hijau.

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun cincau hijau terhadap ekspresi enzim lipoprotein lipase dan histopatologi jantung pada hewan model *Rattus norvegicus* yang diinduksi diet tinggi lemak

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah ada pengaruh terapi preventif ekstrak daun cincau hijau terhadap aktivitas enzim lipoprotein lipase pada tikus yang diinduksi dengan diet tinggi lemak ?
2. Bagaimana pengaruh terapi preventif ekstrak daun cincau hijau dalam memperbaiki gambaran histopatologi jantung pada tikus yang diinduksi dengan diet tinggi lemak ?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah uraikan, maka batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Tikus (*Rattus norvegicus*) sejumlah 20 ekor, jenis kelamin jantan, berumur 6-8 minggu, berat badan 150-200g dan penggunaan hewan model sedang dalam proses mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya.
2. Perlakuan dengan ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia merr*) diberikan dengan 3 dosis yaitu 1,35g/ekor/hari, 2,7g/ekor/hari, 5,4g/ekor/hari diberikan melalui sonde lambung selama 2 minggu
3. Diet hiperlipidemia pada tikus (*Rattus norvegicus*) menggunakan HFD (*High-Fatty Diet*) dengan diet tinggi lemak diberikan pada pakan harian, yaitu 20g pakan starter ayam broiler Pokphan 511, 2g lemak sapi, 1g kuning telur puyuh dan 2g mentega (Rini, 2012).
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah aktivitas enzim lipoprotein lipase yang terdapat dalam serum darah dan histopatologi jantung diamati adanya perubahan gambaran histopatologi secara kualitatif menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX 51*.

1.4 Tujuan Penelitian

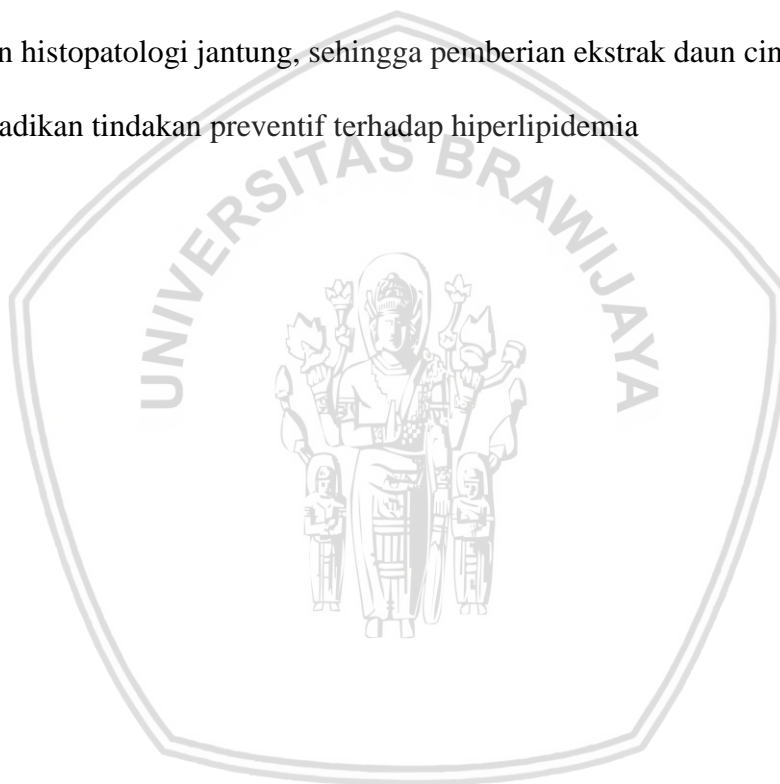
Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui pengaruh terapi preventif ekstrak daun cincau hijau terhadap ekspresi enzim lipoprotein lipase

- b. Mengetahui pengaruh terapi preventif ekstrak daun cincau hijau dalam memperbaiki gambaran histopatologi jantung

1.5 Manfaat Penelitian

Membuktikan bahwa ekstrak daun cincau hijau yang digunakan sebagai alternatif preventif hiperlipidemia pada hewan coba *Rattus novergicus* dapat berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipoprotein lipase dan memperbaiki gambaran histopatologi jantung, sehingga pemberian ekstrak daun cincau hijau dapat dijadikan tindakan preventif terhadap hiperlipidemia



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekstrak Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr.)

Klasifikasi *Premna oblongifolia* Merr.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiosperma
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Verbanaceae
Genus	: Premna
Spesies	: <i>Premna oblongifolia</i> Merr

Batang tanaman *Premna oblongifolia* Merr tegak seperti tanaman pada umumnya, memiliki bentuk perdu atau liana yang berbatang tegak. Daunnya berbentuk oval lonjong dan panjang dengan tulang daun yang agak besar. Kulit daun ada yang berlilin dan ada yang tidak. Pembungaan berkelompok diujung ranting dan dapat juga pada batang atau cabang yang besar. Bunganya berkelamin ganda, dengan mahkota berjumlah 4-5 helai. Kelopak bunga berjumlah 2-5 helai. Buah tidak berdaging dengan biji yang tidak memiliki endosperma.

Cincau hijau secara tradisional digunakan sebagai obat penurun panas, obat radang lambung, menghilangkan rasa mual, hingga penurun darah tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air cincau dapat menurunkan sel kanker. Bahkan ekstrak dari akar cincau mempunyai aktivitas antioksidan.

Beberapa komponen yang berperan aktif dalam cincau adalah flavonoid, klorofil, dan pektin (Rachmawati, 2009). Senyawa flavonoid mempunyai ikatan gula yang disebut aglikon yang berikatan dengan berbagai gula dan sangat mudah terhidrolisis atau mudah lepas dari gugus gulanya. Flavonoid merupakan antioksidan yang potensial untuk mencegah pembentukan radikal bebas. Senyawa tersebut mempunyai sifat antibakteri dan antiviral (Heranani, 2004).

Selain memiliki senyawa bioaktif yang tinggi, cincau juga memiliki kandungan serat yang cukup tinggi yakni pektin yang merupakan komponen utama pada ekstrak cincau yang merupakan polisakarida yang bermetoksi rendah (Nurdin, dkk, 2008). Pektin bersifat polar dan dapat melapisi dinding usus untuk mencegah absorpsi asam lemak yang bersifat nonpolar dari HFD dan bekerja sebagai adsorbent dalam usus serta dapat berguna sebagai antikoagulan yang memiliki efek heparin dan dapat digunakan untuk menurunkan kolesterol dalam darah (Syah, 2010). Pektin dapat dengan mudah difermentasi oleh mikroflora usus besar yang menghasilkan asam asetat, propionat dan butirir yang dapat menghambat sintesis kolesterol. Penurunan sintesis kolesterol oleh pektin terjadi karena pektin mengikat asam lemak bebas serta kolesterol dalam bentuk asam empedu di dalam saluran pencernaan dan dikeluarkan bersama dengan feses. Kandungan klorofil yang terdapat dalam cincau hijau paling tinggi jika dibandingkan dengan daun murbei, katuk, dan pegagan (Kusharto, dkk, 2008). Klorofil memiliki dua bagian yaitu cincin kompleks porfirin dan fitol. Fitol bersifat hidrofobik yang dapat menyebabkan penurunan timbunan lemak dalam darah sekaligus mencegah penyumbatan pembuluh darah (Limantara, 2009).

Ekstraksi adalah istilah yang digunakan untuk suatu tindakan yang melibatkan perpindahan suatu konstituen padat atau cair (*solute*) kedalam pelarut lain yaitu solvent atau pelarut (Tania, dkk, 2009). Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengekstraksi tertentu. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam tersebut (Agoes,2007).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu cara dingin dan cara panas.

1. Cara dingin dapat dilakukan dengan cara :

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Ditjen POM,2000).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh perkolat yang jumlahnya 1-5 kali jumlah bahan (Ditjen POM,2000).

2. Cara panas dapat dilakukan dengan cara :

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature pada titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna (Ditjen POM,2000).

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan pada umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM,2000).

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetic (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur $40^{\circ} - 50^{\circ}\text{C}$ (Ditjen POM,2000).

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur $96^{\circ} - 98^{\circ}\text{C}$ selama waktu 15 – 20 menit di penangas air, dapat berupa bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih (Ditjen POM,2000).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Ditjen POM,2000).

2.2 Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*)

Menurut Krinke (2000) klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Penggunaan hewan coba dalam berbagai penelitian sebagian besar adalah hewan pengerat terutama mencit (*Mus musculus* L.) dan tikus (*Rattus norvegicus*). Hal ini disebabkan karena secara genetik, manusia dan kedua hewan coba tersebut memiliki banyak sekali kemiripan (Husaeni,2008). Penggunaan tikus jantan lebih banyak dibandingkan tikus betina karena tikus jantan menunjukkan periode pertumbuhan yang lebih lama (Husaeni,2008). Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar berusia 7-8 minggu. Keuntungan penggunaan tikus putih galur wistar terutama yang masih muda (\pm 2 bulan) adalah pada umumnya mempunyai nafsu makan yang kuat dan masih dalam masa pertumbuhan yang optimal, meskipun berat badannya relatif tidak stabil dan sering fluktuatif (Hanikatiqo,2010). Secara hormonal tikus putih jantan lebih

stabil dibandingkan dengan tikus putih betina karena tikus putih betina mengalami masa estrus dan masa bunting (Hanikatiqo, 2010).

High Fatty Diet (HFD) menggunakan 20g pakan starter ayam broiler Pokphand 511, 2g lemak sapi, 1g kuning telur puyuh dan 2g mentega. Sistem perkandangan diatur dengan memperhatikan *animal welfare* dan membatasi aktivitas pergerakan hewan model. Kadar amoniak dalam kandang juga diperhatikan karena juga mempengaruhi pertumbuhan badan dari tikus yang dapat mempengaruhi tingkat stres tikus (Rini, 2012)

2.3 Hiperlipidemia

Menurut UPT-Balai Informasi Teknologi LIPI pada tahun 2009, hiperlipidemia (hiperlipoproteinemia) adalah tingginya kadar lemak (kolesterol, trigliserida, maupun keduanya) dalam darah. Hiperlipidemia terjadi akibat faktor genetik, karena penyakit lain (diabetes mellitus, hipotiroid, obesitas, dan lain-lain) dan obat-obatan seperti diuretik, kontrasepsi oral, dan lain-lain (Priyanto, 2009). Keadaan hiperlipidemia mencakup terjadinya hiperlipoproteinemia dan hiperlipemia (Katzung, 2006). Hiperlipidemia dapat diklasifikasikan menjadi beberapa tipe dan yang sering digunakan adalah klasifikasi Fredericksn yang membagi hiperlipidemia berdasarkan fenotip plasma. Klasifikasi ini merupakan alat bantu yang penting karena meliputi berbagai keadaan metabolisme (Suyatna, 2007).

Hiperlipidemia tipe I, memperlihatkan hiperkilomikronemia pada waktu puasa bahkan dengan diet normal dan disebabkan oleh kekurangan lipoprotein lipase yang dibutuhkan untuk metabolisme kilomikron dan defisiensi apoprotein

CII. Trigliserida serum meningkat dengan jelas dengan rasio kolesterol:trigliserida kurang dari 0,2:1. Komplikasi dari hiperlipidemia tipe I adalah pendarahan akibat pankreatitis akut, akan tetapi tipe I ini tidak terkait dengan aterosklerosis jantung prematur. Pemeriksaan biokimia menunjukkan adanya lapisan krem dipermukaan plasma pasien puasa (Suyatna, 2007).

Hiperlipidemia tipe II, menunjukkan adanya peningkatan LDL dan apoprotein B dengan VLDL kadar normal (tipe IIa) dan kadar VLDL sedikit meningkat (tipe IIb). Pada tipe II terjadi hiperlipidemia diduga terjadi karena penurunan jumlah reseptor LDL berafinitas tinggi. Xantoma jenis tuberosa atau tendinosa muncul pada heterozigot atau homozigot, sedangkan lesi plantar sering tampak pada homozigot. Pasien homozigot akan mengalami penyakit iskemia jantung pada usia muda, sedangkan jantan yang heterozigot juga akan mengalami iskemia jantung dengan persentasi kejadian 60% pada usia tua (Suyatna, 2007).

Hiperlipidemia tipe III, dikenal dengan nama Familial Disbetalipoproteinemia, ditandai dengan tingginya kadar kilomikron dan IDL. Pada tipe ini akan terjadi penumpunan IDL yang disebabkan oleh blokade parsial dalam metabolisme VDL menjadi LDL, peningkatan produksi apoprotein B atau apoprotein E total. Pada pasien dengan tipe III ini absorbs sisa VLDL dan sisa kilomikron oleh hati dihambat sehingga terjadi akumulasi di darah dan jaringan. Pada kelainan ini kadar kolesterol serum dan trigliserida meningkat. Penyakit koroner, kardiovaskuler dan pembuluh darah tepi terjadi lebih cepat yaitu pada usia dewasa dan intoleransi glukosa dapat terjadi (Suyatna, 2007).

Hiperlipidemia tipe IV, terjadi peningkatan VLDL dengan hipertrigliseridemia, mekanisme kelainan ini belum diketahui akan tetapi penyebab penyakit ini adalah karena penyakit lain seperti obesitas. Penyakit iskemia jantung dapat terjadi dan pasien menunjukkan intoleransi dengan glukosa (Suyatna, 2007).

Hiperlipidemia tipe V, memperlihatkan terjadinya akumulasi VLDL dan kilomikron, mungkin disebabkan karena gangguan katabolisme trigliserida endogen dan eksogen. Karena semua lipoprotein mengandung kolesterol sehingga kadar kolesterol dapat meningkat jika kadar trigliserida terlalu tinggi. Pasien dengan tipe ini menunjukkan intoleransi terhadap karbohidrat dan lemak (Suryatna, 2007).

Induksi hiperlipidemia dapat dilakukan secara endogen dan eksogen. Induksi endogen dilakukan dengan memberikan propiltiourasi yang merupakan antitiroid golongan tioamida (Tisnadjaja, 2010). Induksi secara eksogen dilakukan dengan pemberian makanan diet tinggi kolesterol dan lemak. Makanan tersebut terdiri dari kuning telur dan lemak hewan yang merupakan sumber kolesterol dan lemak (Juheini, 2013).

Kasus yang ditemukan pada hewan kesayangan seperti pada anjing juga tidak jarang sering terjadi. Penyerapan kilomikron akan meningkatkan kadar trigliserida 3-10 jam, namun beberapa hewan akan mengalami peningkatan kolesterol dan trigliserida lebih dari 12 jam setelah makan yang sebagai indikasi utama terjadinya hiperlipidemia. Kadar normal trigliserida pada anjing yang sebesar 200 mg/dL dalam kondisi hiperlipidemia bahkan mencapai 1000 mg/dL.

Penyakit seperti diabetes melitus dan hipertirodisme dapat mengurangi enzim Lipoprotein Lipase (LPL) yang salah satunya berfungsi melarutkan lemak. Diabetes melitus, obesitas, dan *hyperadrenocorticism* dapat mempengaruhi hati sedemikian rupa sehingga hati menghasilkan *very low density lipoprotein* (VLDL), sehingga menyebabkan peningkatan tingkat lemak di dalam darah. Penyakit lainnya, seperti sindroma nefrotik, menyebabkan hati untuk meningkatkan produksi kolesterol. Sebaliknya, jika liver sendiri telah rusak maka tidak dapat mengekskresikan kolesterol. Hiperlipidemia juga bisa diwariskan oleh induk kepada anaknya pada beberapa *breed* anjing (Justin *et al.*, 2007).

2.4 Enzim Lipoprotein Lipase

Enzim lipoprotein lipase adalah enzim yang bertanggung jawab terhadap hidrolisis komponen inti trigliserida yakni kilomikron dan VLDL menjadi monoasilgliserol dan asam lemak bebas. Lipoprotein lipase atau LPL disintesis di dalam jaringan adiposa, disekresi kedalam celah interstisial, dan diantarkan kedalam kapiler endothelium, LPL akan berikatan dengan glikoaminoglikan. Lipoprotein yang kaya akan trigliserida seperti kilomikron dan VLDL akan dihidrolisis oleh LPL dan mengkonversi partikel-partikel tersebut menjadi lebih kecil, padat dan menghasilkan generasi pada sisa-sisa permukaan yang menyebabkan timbulnya HDL (Peter, 2003). Lipoprotein lipase dapat ditemukan menempel pada permukaan luminal dari sel endothelial di jantung, otot, dan jaringan adiposa. Mutasi dari enzim LPL dapat menyebabkan terjadinya kelainan pada metabolisme lipoprotein, hipertrigliseridemia, dan lain-lain. Ekspresi enzim LPL yang berlebihan pada mencit diketahui menunjukkan gejala obesitas dan

resistensi insulin. LPL diukur sebagai suatu aktivitas yang dapat disekresikan ke dalam media kultur, LPL dilepaskan dari dalam sel menggunakan heparin dan diekstraksi dari pencernaan sel. Konsentrasi heparin yang luas akan menyebabkan pelepasan LPL dengan cepat dari aktivitas seluler.

2.5 Jantung

Jantung adalah sebuah organ berotot dengan empat ruang yang terletak di rongga dada dibawah perlindungan tulang iga, sedikit ke sinister sternum. Jantung terbagi menjadi empat ruang dengan dinding otot yang memiliki ketebalan yang berbeda, atrium kiri dan kanan berukuran kecil dengan dinding yang tipis terletak tepat diatas ventrikel kiri dan kanan. Ventrikel memiliki ukuran yang besar dan dinding yang lebih tebal yang melakukan kebanyakan pekerjaan jantung. (Shah *et al.*, 2008). Atrium menerima darah dari sistem peredaran darah dan paru-paru lalu meneruskannya ke ventrikel, darah kemudian akan dipompa ke seluruh tubuh dan ke paru-paru oleh ventrikel.

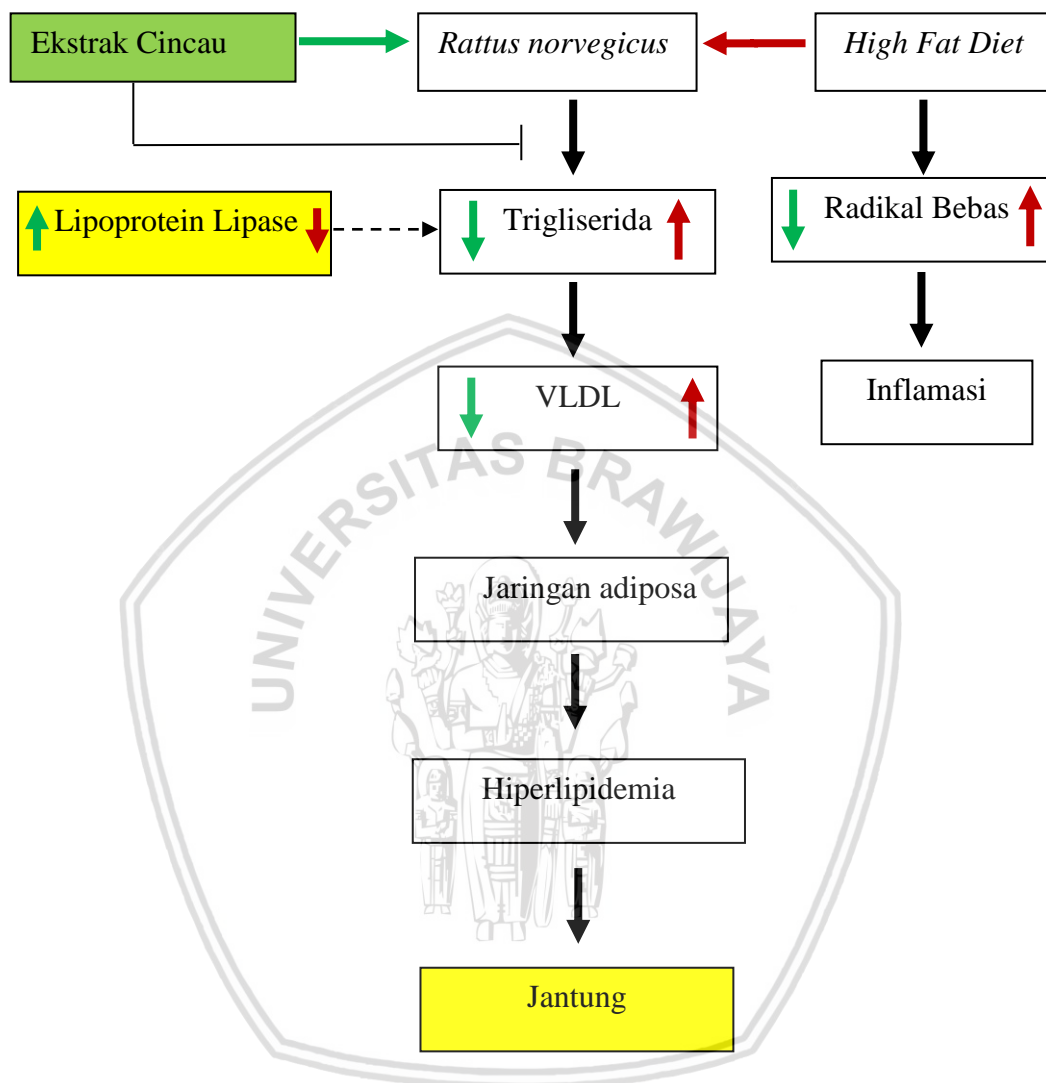
Secara struktural dinding jantung terdiri dari 3 lapisan yaitu :

1. Endokardium terletak pada labisan subendotel. Pada bagian dalam dibatasi oleh endotel. Endokardium tersusun atas jaringan penyambung jarang dan banyak mengandung vena, syaraf, dan cabang-cabang sistem penghantar impuls.
2. Miokardium terdiri atas sel-sel otot jantung. Sel-sel otot jantung dibagi dalam 2 kelompok; sel-sel kontraktil dan sel-sel kardiomiosit yang menimbulkan dan menghantarkan impuls sehingga mengakibatkan denyut jantung.

3. Epikardium merupakan membran serosa jantung, membentuk batas visceral perikardium. Sebelah luar diluti oleh epitel selapis (mesotel). Jaringan adiposa secara normal terkumpul pada lapisan ini.



BAB 3 KERANGKA KONSEP



Keterangan :

- ↓ : Efek terapi preventif cincau hijau
 : Variabel yang diamati
- ↑ : Efek induksi diet tinggi lemak
 : Variabel bebas
- ↓ : Menstimuli
 : Menekan

Hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) diinduksi obesitas menggunakan HFD (*high-fat diet*). Lipid yang masuk ke tubuh akan diabsorpsi oleh usus dan masuk ke pembuluh darah, selanjutnya dibawa melalui vena hepatica menuju hepar untuk di metabolisme menjadi trigliserida dan kolesterol ester yang akan diikat oleh fosfolipid menjadi kilomikron. Enzim yang berperan dalam hidrolisis kilomikron adalah lipoprotein lipase, enzim ini dihasilkan oleh jaringan adiposa dan aktif ketika tubuh akan menggunakan cadangan lemak sebagai sumber energi. Intake lipid yang tinggi menyebabkan jumlah kilomikron yang diproduksi meningkat sehingga stimulasi pembentukan VLDL juga meningkat. VLDL berfungsi sebagai alat transport kolesterol dari hepar ke jaringan perifer (Pusparini, 2006) termasuk ke sel otot jantung. Akumulasi lemak yang dibawa oleh VLDL ke jaringan perifer dengan jumlah melebihi normal kemudian akan menyebabkan terjadinya hiperlipidemia, pada kondisi ini, tubuh tidak memerlukan penggunaan energi cadangan yang terdapat pada trigliserida sehingga enzim lipoprotein lipase tidak memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas yang mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim lipoprotein lipase.

Lemak yang dibawa oleh VLDL kemudian akan terakumulasi salah satunya di jantung dan akan menyebabkan penimbunan jaringan adiposa pada jantung. Jaringan adiposa ini menghasilkan adipokin yang merupakan peptida bioaktif yang akan menginduksi produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Sanchez *et al.*, 2012).

Ekstrak cincau hijau diberikan melalui sonde lambung sebelum hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) diberi makan, selama 14 hari sebanyak 2mL.

Ekstrak daun cincau akan diserap oleh lambung, pektin yang terkandung didalam ekstrak cincau memiliki sifat polar dan dapat melapisi dinding usus untuk mencegah absorpsi asam lemak yang bersifat nonpolar dari HFD dan bekerja sebagai adsorbent dalam usus serta dapat berguna sebagai antikoagulan yang memiliki efek heparin dan dapat digunakan untuk menurunkan kolesterol dalam darah (Syah,2010).

3.2 Hipotesa

Berdasarkan rumusan masalah yang telah ada, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak cincau hijau (*Premna oblongifolia Merr*) dapat meningkatkan aktivitas enzim lipoprotein lipase
2. Ekstrak cincau hijau (*Premna oblongifolia Merr*) dapat mencegah diskontinuitas otot jantung pada gambaran histopatologi jantung tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan diet tinggi lemak.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April sampai bulan November 2015, pembuatan serbuk daun cincau hijau dilakukan di Materina Medica, Batu, aklimatisasi hewan percobaan, perlakuan preventif, hingga euthanasia hewan percobaan dilakukan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang, pemeriksaan histopatologi jantung dilakukan di Bagian Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan pengujian aktivitas enzim LPL dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : kandang tikus (bak plastik dengan tutup kandang terbuat dari kawat), botol minum tikus, alas kandang berupa sekam dari serutan kayu halus, alat sonde tikus, spuit 5cc, *gloves*, masker, *dissecting set*, *microtube*, timbangan digital, timbangan analog, gelas ukur, penangas air, pengaduk kaca, gelas objek, *cover glass*, mikroskop cahaya (*Olympus BX51*), kamera digital, *stirrer*, tabung erlenmeyer, *centrifuge* (Thermoscientific Sorvall Biofuge Primo R Centrifuge), *eppendorf micropipette* ukuran 10-100 μL , spektrofotometer (Genesys 10 UV-Visible Spectrophotometers), *cooler box*, *microtome*, *tissue processor*, *tissue embedding*, *water bath*, tempat *staining*, *paraffin cassette*,

vortex, botol *schott* 1000 mL (Duran), gelas ukur 250 mL (Pyrex® Iwaki), tabung erlemeyer 250 mL (Pyrex® Iwaki), pipet ukur 5 mL (Pyrex® Iwaki), pipet ukur 10 mL (Pyrex® Iwaki), karet *bulb*, bunsen, tempat organ, kuvet, *cover glass*, *tissue*, kapas, kertas saring, *box* pakan, alat otomato Biosystem, dan aluminium foil.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, serbuk cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr), pakan starter ayam broiler Pokphand 511, lemak sapi, kuning telur puyuh, mentega, kelapa, buffer phospat pH 6,8, aquades, substrat minyak zaitun, emulsi gum arabik, NaOH 0,1N, Phenolptaelin, Natrium klorida (NaCl) fisiologis 0,9%, etanol absolut I-III, 70%, 80%, 90% dan 95%, xylol, formaldehid 10%, kloroform 10%, buffer isolasi lipase, Paraformaldehida (PFA) 4%, dan pewarna *hematoxyline eosin*.

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah :

1. Kerangka penelitian dan preparasi hewan coba tikus
2. Penentuan dosis ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr.)
4. Preparasi hewan model tikus dengan induksi diet hiperlipidemia
5. Pemberian ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr.)
6. Pengambilan serum dan organ jantung

7. Pengujian aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) dari serum
8. Pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoksin-eosin (HE)

4.3.2 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : ekstrak cincau hijau, diet tinggi lemak

Variabel terikat : aktivitas lipoprotein lipase, organ jantung, histopatologi jantung

Variabel kontrol : jenis kelamin, umur, berat badan tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Kerangka Penelitian dan Preparasi Hewan Coba Tikus

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap digunakan apabila media yang dipakai dalam penelitian sama atau dianggap seragam (Kusriningrum, 2008). Pengujian aktivitas enzim lipoprotein lipase dan gambaran histopatologi jantung dilakukan *post test only*. Hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Rancangan kelompok penelitian dapat dilihat pada **Tabel 4.1**. Secara lengkap skema kelompok perlakuan dan skema kerja penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Tabel 4.1. Rancangan Kelompok Penelitian

Variabel yang diamati	Ulangan			
Aktivitas Enzim Lipoprotein lipase dan Histopatologi Jantung	1	2	3	4
Kelompok K- (kontrol negatif)				
Kelompok K+ (kontrol positif/tikus hiperlipidemia)				
Kelompok P1 (tikus dengan HFD + ekstrak cincau hijau 6,75 g/kg BB)				
Kelompok P2 (tikus dengan HFD + ekstrak cincau hijau 13,5 g/kg BB)				
Kelompok P3 (tikus dengan HFD + ekstrak cincau 27 g/kg BB)				

Penentuan jumlah sampel minimal menggunakan rumus $p(n-1) \geq 15$, dimana (p) adalah banyaknya perlakuan dan (n) adalah banyaknya ulangan (Kusriningrum, 2008), perhitungan banyaknya ulangan sebagai berikut :

$$p(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

4.4.2 Persiapan Hewan Percobaan

Tikus dibagi dalam 5 kelompok perlakuan dan setiap kelompok terdapat 4 tikus, yaitu kelompok 1 adalah tikus yang tidak diberi perlakuan (kontrol negatif/K-), kelompok 2 adalah tikus yang diinduksi dengan *High Fatty Diet* (HFD) (kontrol positif/K+), kelompok 3 adalah tikus yang diinduksi dengan *High Fatty Diet* (HFD) dan diberikan perlakuan ekstrak cincau hijau 6.75 g/kg BB, kelompok 4 adalah tikus yang diinduksi dengan *High Fatty Diet* (HFD) dan diberikan perlakuan ekstrak cincau hijau 13,5 g/kg BB, dan kelompok 5 adalah tikus yang diinduksi dengan *High Fatty Diet* (HFD) dan diberikan perlakuan ekstrak cincau hijau 27 g/kg BB (skema penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 1**).

Sebelum mendapatkan perlakuan, hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) diaklimatisasikan terhadap lingkungan laboratorium selama 7 hari. Pemberian pakan selama masa aklimatisasi berupa pakan standar sesuai kebutuhan yaitu 20g/ekor/hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Pakan yang diberikan berupa konsentrat dengan komposisi air maksimal 12%, protein kasar minimal 12%, lemak kasar 3-7%, serat kasar 8%, abu 10%, kalsium 0,9-1,2% dan fosfor 0,6-1%. Tikus dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dan

dipelihara pada ruang bersuhu 26-27°C dengan kelembaban ruang 83%.

4.4.3 Perlakuan Tikus (*Rattus norvegicus*) Induksi dengan *High Fatty Diet* (HFD)

Pemberian pakan *High Fatty Diet* (HFD) per-200g berat badan tikus berupa 20g pakan starter ayam broiler Pokphan 511, 2g lemak sapi, 1g kuning telur puyuh dan 2g mentega. Pemberian HFD dilakukan dengan cara kuning telur puyuh direbus dan ditimbang 1g, kemudian dicampur lemak sapi yang telah dipanaskan (100°C) dan mentega. Setelah itu diberikan secara sonde pada tikus dengan mencampur campuran kuning telur, lemak sapi, dan mentega tadi dengan ekstrak cincau hijau. Pemberian HFD dilakukan selama 15 hari, tikus diinjeksi dengan heparin 12 jam sebelum dilakukan eutanasi dan pengambilan darah.

4.4.4 Perlakuan menggunakan Ekstrak Daun Cincau Hijau

Terapi ekstrak daun cincau diberikan satu jam sebelum pemberian induksi *High Fatty Diet* yaitu 2g lemak sapi, 1g kuning telur puyuh dan 2g mentega. Perlakuan menggunakan ekstrak daun cincau hijau dibagi menjadi 3 dosis yaitu ekstrak cincau hijau 1,35g/200g BB, ekstrak cincau hijau 2,7g/200g BB, dan ekstrak cincau hijau 5,4g/200g BB. Penghitungan dosis mengacu pada dosis empiris daun cincau di masyarakat (penghitungan dosis dapat dilihat

pada **Lampiran 4)** adalah 150g daun cincau hijau basah setara dengan 1,5g ekstrak, ini digunakan untuk manusia dengan berat badan 70 kg.

4.4.5 Metode Euthanasi dan Pengambilan Organ Jantung

Tikus didislokasi pada bagian leher dan dilakukan pembedahan. Organ jantung diambil dan dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9% dan direndam dalam larutan Paraformaldehida (PFA) 4%.

4.4.6 Pembuatan dan Pemeriksaan Preparat Histopatologi Jantung

Jaringan jantung tikus dibuat preparat histopatologi dengan metode pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX51. Perubahan yang diamati adalah perlemakan jantung pada jaringan adiposa dibagian atrium. Pemeriksaan histopatologi jantung masing-masing dilakukan 5 lapang pandang mikroskopik dengan pembesaran 400X (skema penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 2**).

4.4.7 Pengambilan Serum dan Pengukuran Aktivitas LPL

Darah diambil melalui jantung dan ditampung dalam tabung venoject, diletakkan pada posisi miring 45° dan dibiarkan mengendap pada suhu kamar. Serum diambil menggunakan pipet dan dipindah ke ependorf untuk disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 3000rpm. Uji aktivitas LPL dilakukan pada semua sampel serum. Serum ditambahkan pada buffer phospat kemudian dicampur dengan

substrat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit, lalu dididihkan, setelah dingin, tambahkan indikator PP sebanyak 1 tetes dan lakukan titrasi menggunakan NaOH 0,1 N hingga warna menjadi merah muda.

Rumus yang digunakan :

$$\text{Aktivitas} = \frac{\text{Konsentrasi NaOH} \times \text{Volume NaOH}}{\text{Volume Enzim} \times 10}$$

4.5 Analisa Data

Analisa data kuantitatif aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) dilakukan dengan uji statistika menggunakan uji ANOVA (*one way analysis of varians*) yang dilanjutkan dengan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) atau Tukey yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang nyata dengan tingkat signifikansi 5% menggunakan Microsoft Office Excel dan SPSS (*statistical package for the social science*) version 16.0 for windows. Hasil pengamatan histopatologi jantung dianalisa secara deskriptif.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Terapi Preventif Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr) Terhadap Aktivitas Enzim Lipoprotein lipase Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak

Enzim lipoprotein lipase adalah enzim yang bertanggung jawab untuk hidrolisis trigliserida dari lipoprotein plasma, terutama kilomikron dan VLDL (Goldberg and Merkel, 2011). Aktivitas enzim lipoprotein lipase merupakan kemampuan enzim lipoprotein lipase untuk menghidrolisis trigliserida. Aktivitas enzim LPL dapat mengalami peningkatan atau penurunan dipengaruhi oleh proses metabolisme dalam tubuh. Ketidakseimbangan aktivitas enzim LPL dapat merubah partisi trigliserida plasma antara otot dan jaringan adiposa, berpengaruh pada resistensi insulin dan obesitas (Kusonoki dkk.,2012).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, analisa aktivitas enzim LPL pada tikus perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji ANOVA (Lampiran) dan dilanjutkan dengan uji Tukey (Lampiran) menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Hasil pengukuran rata-rata aktivitas enzim LPL terhadap 5 kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan 1 (tikus dengan HFD + ekstrak cincau hijau 6,75gr/kg Bb/hari), perlakuan 2 (tikus dengan HFD + ekstrak cincau hijau 13,5gr/kg Bb/hari), perlakuan 3 (tikus dengan HFD + ekstrak cincau hijau 27gr/kg Bb/hari), serta persentase terjadinya penurunan atau peningkatan pada masing-masing kelompok tikus perlakuan dapat dilihat pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Hasil Analisa Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase (LPL)

Perlakuan	Rata-rata aktivitas enzim LPL (unit)	Penurunan aktivitas enzim LPL terhadap kontrol negatif (%)	Peningkatan aktivitas enzim LPL terhadap kontrol positif (%)
Kontrol negatif	4.19 ± 0,106 ^d	-	-
Kontrol positif	0.76 ± 0,151 ^a	81,86	-
Kelompok P1	1.64 ± 0,161 ^b	-	88
Kelompok P2	2.76 ± 0,129 ^c	-	200
Kelompok P3	3.93 ± 0,179 ^d	-	317

Keterangan: notasi a,b,c, dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar perlakuan.

Hasil analisa secara statistika menggunakan *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa pemberian preventif ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan *High Fatty Diet* (HFD) dapat memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL). Uji lanjutan menggunakan uji BNJ (beda nyata jujur)/*Tukey* memperlihatkan bahwa rata-rata aktivitas enzim LPL tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol negatif (K-) berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif (K+).

Aktivitas enzim LPL pada tikus kelompok kontrol negatif memiliki nilai rata-rata aktivitas enzim LPL sebesar 4,19 unit. Secara normal enzim LPL berperan untuk melakukan hidrolisis trigliserida yang kaya akan lipoprotein dan melepaskan asam lemak yang tidak teresterifikasi (NEFA), yang digunakan untuk metabolisme energi pada jaringan perifer seperti otot, atau diesterifikasi

kembali menjadi trigliserida dan disimpan pada jaringan adiposa (Kusonoki, 2012). Aktivitas LPL pada tikus kelompok kontrol negatif merupakan standar rata-rata aktivitas LPL pada serum tikus dalam keadaan normal. Aktivitas LPL normal pada tikus jantan berkisar 8,22 unit, sedangkan pada tikus betina berkisar 10,40 unit (Hamosh and Paul, 2007). Satu unit aktivitas enzim LPL didefinisikan sebagai jumlah mikromol dari asam lemak bebas per millimeter enzim per menit per desiliter darah pada kondisi optimum (Dian dkk., 2002).

Rata-rata aktivitas enzim LPL tikus (*Rattus norvegicus*) pada kelompok tikus hiperlipidemia adalah 0,76 unit, berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok tikus kontrol dan nilai rata-rata aktivitas LPL pada tikus hiperlipidemia mengalami penurunan sebesar 81,86% terhadap kelompok kontrol. Hal ini disebabkan karena induksi HFD yang meningkatkan sekresi VLDL yang diproduksi hati melalui peningkatan aktivitas glukokortikoid pada hipotalamus yang menginduksi sekresi kortisol berlebih oleh kelenjar adrenal sehingga kelenjar tiroid mengalami gangguan dan menghambat aktivasi apolipoprotein C-II (Rifa'is, 2015). Aktivasi apolipoprotein C-II terhambat karena radikal bebas dan peroksida lipid, hal ini menyebabkan menurunnya aktivitas enzim LPL.

Aktivitas enzim LPL yang rendah pada penderita hiperlipidemia diakibatkan oleh induksi HFD yang menyebabkan terjadinya peningkatan kadar kolesterol dan trigliserida dalam darah dan menstimulasi sintesa asam empedu. Sintesa asam empedu yang berlebihan akan menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas (ROS). ROS adalah molekul yang tidak berpasangan

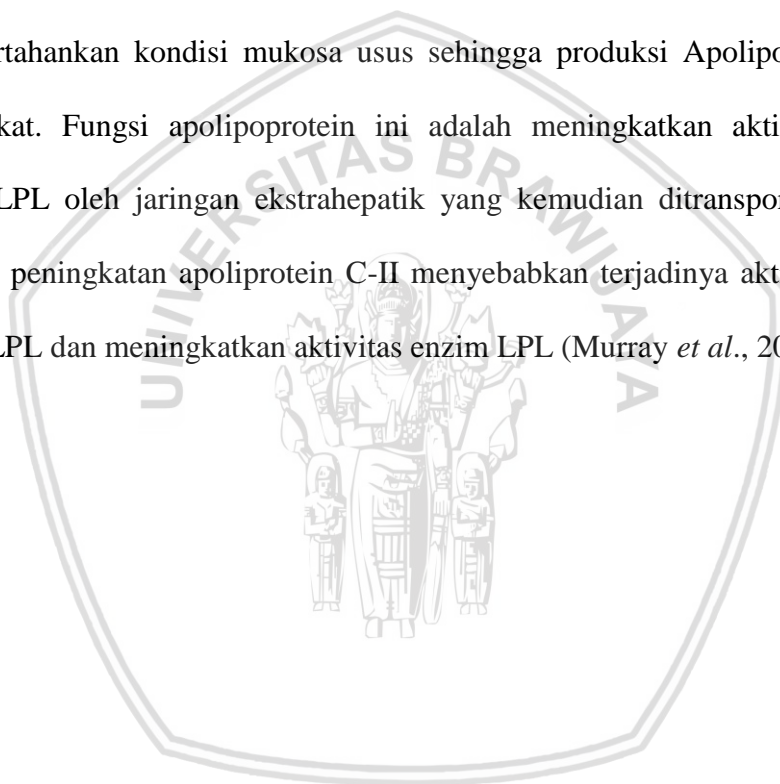
dan oleh karena itu sangat tidak stabil dan sangat reaktif (Widayati, 2017). Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologis, seperti sel darah putih yang menghasilkan H_2O_2 untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel, namun radikal bebas tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, sehingga dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi, 2007). Peningkatan produksi ROS dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang memicu terjadinya reaksi terhadap asam lemak tak jenuh jamak (*polyunsaturated fatty acid*, PUFA) yang mengandung tiga ikatan rangkap yang disebut dengan peroksidasi lipid. Reaksi ini terjadi karena lipid merupakan salah satu molekul yang paling sensitif terhadap radikal bebas (Nurkriswanto, 2009).

Timbulnya ROS yang berlebihan menyebabkan defisiensi apolipoprotein C-II sehingga terjadi ketidakseimbangan ratio enzim LPL dengan kadar VLDL yang membawa trigliserida didalam tubuh. Ratio enzim LPL dan kadar VLDL yang tidak seimbang menyebabkan enzim LPL tidak mampu bekerja secara maksimal atau tidak mampu menghidrolisis secara keseluruhan lipoprotein yang kaya akan trigliserida dalam tubuh (Kurniawati, 2010). Ketidakseimbangan antara aktivitas LPL dapat menyebabkan partisi trigliserida plasma antara otot dan jaringan adiposa, dan dapat mempengaruhi resistensi insulin (Kusonoki, 2012). Hal ini membuktikan bahwa kondisi hiperlipidemia dapat menyebabkan gangguan metabolisme lipid (Pragda *et al.*, 2012).

Rata-rata aktivitas enzim LPL tikus (*Rattus norvegicus*) pada kelompok perlakuan 1 adalah 1,64 unit, nilai aktivitas LPL pada perlakuan 1 berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok tikus hiperlipidemia (kontrol positif/K+). Dibandingkan dengan kelompok tikus hiperlipidemia, kelompok perlakuan 1 mengalami peningkatan aktivitas LPL sebesar 88%. Rata-rata aktivitas enzim LPL pada kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) perlakuan 2 sebesar 2,76 unit, aktivitas LPL pada kelompok perlakuan 2 berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok tikus hiperlipidemia (kontrol positif/K+). Dibandingkan dengan kelompok hiperlipidemia, kelompok perlakuan 2 mengalami peningkatan aktivitas LPL sebesar 200%. Rata-rata aktivitas enzim LPL tikus (*Rattus norvegicus*) pada kelompok perlakuan 3 adalah 3,93 unit dan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan tikus kelompok hiperlipidemia namun tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol (K-). Aktivitas enzim LPL pada tikus kelompok perlakuan 3 mengalami peningkatan 317% dibandingkan dengan tikus hiperlipidemia. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi terapi preventif dengan ekstrak daun cincau hijau mampu memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) yang terdapat pada kelompok tikus hiperlipidemia.

Peningkatan aktivitas LPL pada tikus yang diberi preventif ekstrak daun cincau hijau disebabkan karena pengaruh pektin yang bersifat polar dan dapat melapisi dinding usus untuk mencegah absorpsi asam lemak yang bersifat

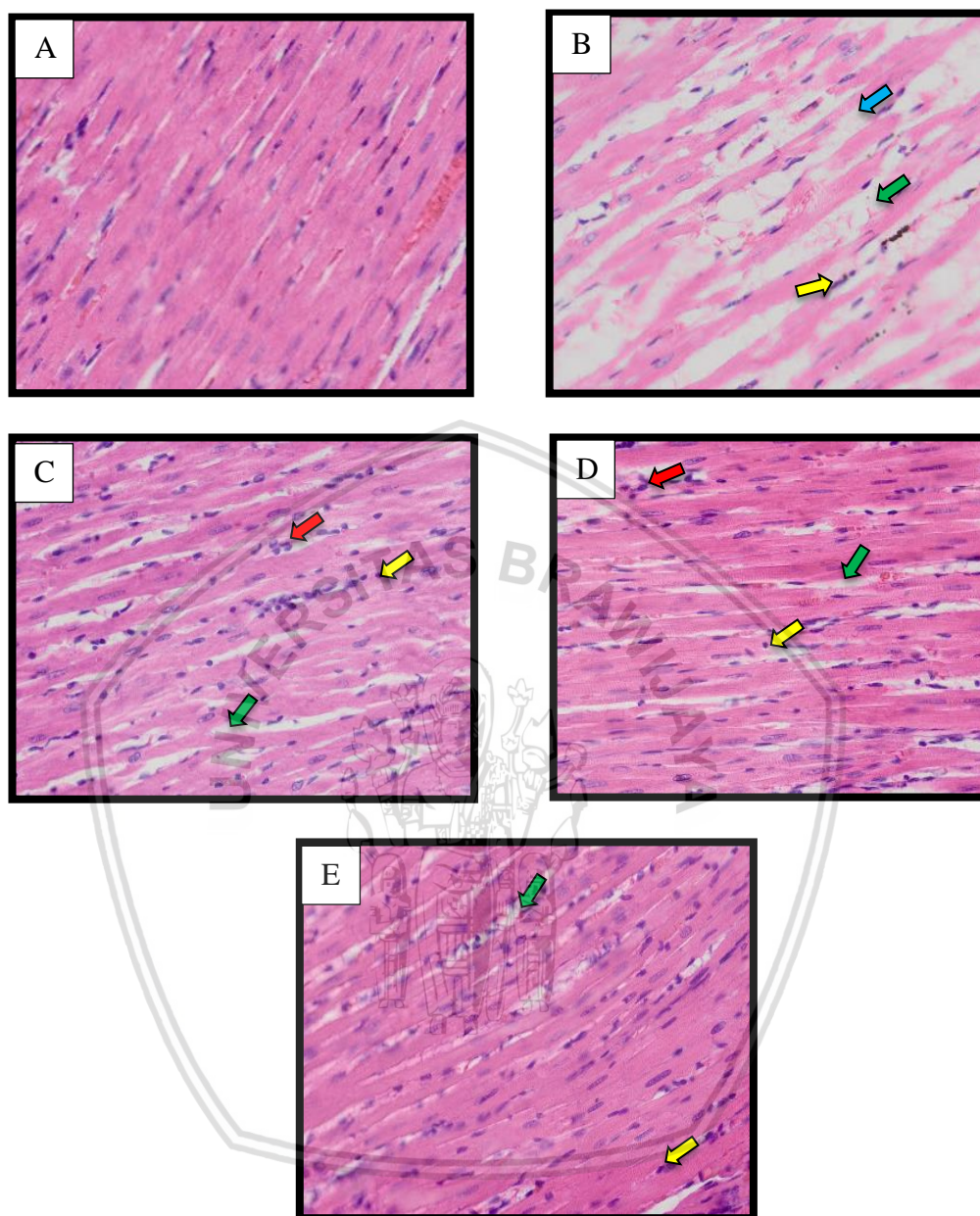
nonpolar dari HFD, selain itu pektin yang dapat dengan mudah difermentasi oleh mikroflora usus besar yang menghasilkan asam asetat, propionat dan butirat yang dapat menghambat sintesis kolesterol. Penurunan sintesis kolesterol oleh pektin terjadi karena pektin mengikat asam lemak bebas serta kolesterol dalam bentuk asam empedu di dalam saluran pencernaan dan dikeluarkan bersama dengan feses. Asam lemak bebas dan kolesterol yang menurun di saluran pencernaan mempertahankan kondisi mukosa usus sehingga produksi Apolipoprotein C-II meningkat. Fungsi apolipoprotein ini adalah meningkatkan aktivasi sintesis enzim LPL oleh jaringan ekstrahepatik yang kemudian ditranspor ke kapiler. Adanya peningkatan apolipoprotein C-II menyebabkan terjadinya aktivasi sintesis enzim LPL dan meningkatkan aktivitas enzim LPL (Murray *et al.*, 2009).



5.2 Pengaruh Terapi Preventif Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr) Terhadap Histopatologi Jantung Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak

Jantung adalah organ yang bertanggung jawab terhadap sirkulasi darah dan menghantarkan oksigen serta nutrisi penting ke seluruh bagian tubuh termasuk lipid. Struktur lapisan jantung secara mikroskopis dari dalam keluar tersusun atas endokardium (*tunica intima*), miokardium (*tunica media*), epikardium (*tunica adventitia*). Setiap lapisan jantung memiliki ketebalan dan fungsi yang berbeda. Miokardium merupakan lapisan jantung yang paling tebal diantara ketiga lapisan jantung dan banyak berisi serat otot jantung, serta jaringan ikat endomisium yang berisi banyak kapiler. Miokardium memiliki jaringan pembuluh darah sendiri, yaitu sirkulasi aliran darah koroner (Tortora, 2009).

Jantung terbagi menjadi empat ruang dengan dinding otot yang memiliki ketebalan yang berbeda setiap ruangnya. Atrium kiri dan kanan berukuran kecil dengan dinding yang tipis terletak tepat diatas ventrikel kiri dan kanan. Ventrikel memiliki ukuran yang besar dan dinding yang lebih tebal yang melakukan kebanyakan pekerjaan jantung. (Shah *et al.*, 2008). Perubahan yang terjadi pada jantung tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi perlakuan preventif ekstrak cincau hijau terhadap induksi hiperlipidemia dapat dilihat melalui pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Hasil pewarnaan HE akan menunjukkan perbedaan gambaran sel, perubahan struktur jaringan, dan infiltrasi lipid pada miokardium terutama pada daerah atrium kanan.



Gambar 5.1. Gambaran histopatologi miokardium jantung tikus (*Rattus norvegicus*) dengan perwarnaan HE dengan perbesaran 400x

Keterangan : Gambar 5.2A kelompok kontrol negatif, Gambar 5.2B kelompok kontrol positif, Gambar 5.2C kelompok perlakuan ekstrak cincau hijau 6,75g/kgBB/ekor/hari, Gambar 5.2D kelompok perlakuan ekstrak cincau hijau 13,5g/kgBB/ekor/hari, Gambar 5.2E kelompok perlakuan ekstrak cincau hijau 27g/kgBB/ekor/hari. (↖) menunjukkan inti sel piknotik. (↗) menunjukkan sel lemak. (↘) menunjukkan diskontinuitas otot jantung. (↙) menunjukkan sel radang.

Gambaran histopatologi jantung tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol (K-) (**Gambar 5.1A**) menunjukkan bahwa miokardium jantung berada pada kondisi normal dan tidak ditemukannya kerusakan. Hal tersebut ditandai dengan sel otot jantung (miokardium) berbentuk utuh dan tersusun secara teratur serta tidak ditemukannya kerusakan jaringan maupun infiltrasi sel lemak. Gambaran histologi tikus kelompok kontrol negatif apabila dibandingkan dengan tikus pada kelompok hiperlipidemia (kontrol positif/K+) yang diberi perlakuan dengan HFD memiliki perbedaan, pada tikus kelompok hiperlipidemia gambaran histopatologi jantung (**Gambar 5.1B**) menunjukkan adanya kerusakan miokardium yang ditandai dengan infiltrasi sel lemak, terdapat diskontinuitas pada jaringan otot jantung, dan banyak inti sel yang mengalami piknotik. Kerusakan terjadi karena pada kondisi hiperlipidemia, terdapat banyak penumpukan jaringan adiposa di dalam tubuh termasuk di jantung. Penumpukan jaringan adiposa ini memicu peningkatan sekresi zat-zat adipokin yang merupakan zat bioaktif yang dapat bekerja lokal maupun jauh melalui efek autokrin, parakrin, dan endokrin (Sanchez dkk., 2012). Sekresi zat adipokin yang berlebihan akan menginduksi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS bersifat sangat tidak stabil dan sangat reaktif sehingga ketika berikatan akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif di berbagai tipe sel dan jaringan (Matsuda dan Shimomura, 2013). Reaksi yang terjadi antara ROS dengan asam lemak tak jenuh disebut dengan peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid menyebabkan terjadinya kerusakan membran sel dan dapat menyebabkan sel kehilangan fungsi selulernya secara total. Terdapat 3

mekanisme kerusakan membran sel, yaitu (1) terjadinya ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen penyusun membran yang mengakibatkan perubahan struktur dan fungsi reseptor; (2) Oksidasi gugus *thiol* pada komponen membran yang menyebabkan proses transpor pada membran terganggu; (3) Reaksi peroksidasi lipid membran yang mengandung PUFA. Target dari ROS yaitu lipoprotein, protein, asam lemak tak jenuh, unsur RNA dan DNA, termasuk karbohidrat.

Gambaran histopatologi pada kelompok terapi preventif ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) dengan dosis 6,75g/kgBB/ekor/hari (**Gambar 5.1C**) menunjukkan adanya ruptur jaringan, sel otot jantung yang tidak beraturan, infiltrasi sel lemak, dan sel radang yang berkurang apabila dibandingkan dengan kelompok hiperlipidemia (**Gambar 5.1B**). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi preventif menggunakan ekstrak daun cincau hijau dengan dosis 6,75g/kgBB belum efektif untuk mencegah kerusakan jaringan miokardium karena kandungan flavonoid belum mampu menetralkan radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh tikus hiperlipidemia. Kelompok terapi preventif ekstrak daun cincau hijau dengan dosis 13,5g/kgBB/ekor/hari (**Gambar 5.1D**) menunjukkan sel miosit jantung yang tersusun rapi, miokardium yang beraturan, tetapi masih terdapat infiltrasi lemak. Kondisi histopatologis pada (**Gambar 5.1D**) menunjukkan bahwa ekstrak daun cincau hijau memiliki kemampuan untuk mencegah kerusakan jaringan dibandingkan dengan kelompok tikus hiperlipidemia (kontrol positif/K+). Jumlah antioksidan yang meningkat disebabkan karena dosis ekstrak cincau yang digunakan lebih tinggi dibandingkan

pada perlakuan 1 (6,75g/kgBB/ekor/hari) menyebabkan perlakuan 2 (13,5g/kgBB/ekor/hari) mampu mencegah kerusakan jaringan lebih baik karena antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid (Mindasari,2010).

Preventif hiperlipidemia pada tikus kelompok perlakuan 3 dengan dosis 27g/kgBB/ekor/hari (**Gambar 5.1E**) menunjukkan perbaikan gambaran histopatologi jantung tikus (*Rattus norvegicus*) yang paling baik diantara ketiga kelompok perlakuan dengan menunjukkan sedikit perlemakan pada miokardium dan perbaikan struktur jaringan mendekati tikus kelompok kontrol. Kemampuan ekstrak daun cincau untuk mencegah terjadinya kerusakan jaringan pada miokardium terjadi akibat kandungan antioksidan pada daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) berupa flavonoid, klorofil, dan pektin yang mampu menghambat pembentukan ROS. Klorofil pada ekstrak daun cincau hijau bekerja pada saluran pencernaan dengan mengemulsikan asam lemak dari HFD menjadi molekul yang lebih besar, sehingga tidak terjadi absorpsi lemak di dalam dinding usus melainkan langsung dibuang bersama dengan sisa hasil metabolisme. Pektin bersifat polar dan dapat melapisi dinding usus untuk mencegah absorpsi asam lemak yang bersifat nonpolar dari HFD dan dapat dengan mudah difermentasi oleh mikroflora usus besar yang menghasilkan asam asetat, propionat dan butirat yang dapat menghambat sintesis kolesterol. Penurunan sintesis kolesterol oleh pektin terjadi karena pektin mengikat asam lemak bebas serta kolesterol dalam bentuk asam empedu di dalam saluran pencernaan dan dikeluarkan bersama dengan feses. Senyawa flavonoid yang terdapat pada cincau hijau memberikan

atom hidrogen pada rangkaian lipida sehingga bentuknya lebih stabil dan juga dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak (Rifai,2015).

Sel radang yang tidak ditemukan pada tikus kelompok perlakuan 3 (**Gambar 5.1E**) dibandingkan yang terdapat pada kelompok perlakuan 1 (**Gambar 5.1C**) dan kelompok perlakuan 2 (**Gambar 5.1D**) disebabkan karena pengaruh klorofil dalam ekstrak daun cincau hijau mampu memodulasi sistem imun dengan cara memproduksi sitokin antiinflamasi yaitu IL-10 dan IL-22, sitokin-sitokin antiinflamasi bekerja menghambat aktivitas sel-sel fagosit (Rifai,2015). Kandungan antioksidan dalam ekstrak daun cincau hijau dapat menghambat radikal bebas, sehingga jalur NF- κ B tidak teraktivasi dan proses inflamasi akibat LDL oksidasi berkurang (Rifai,2015).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa preventif ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) dapat memperbaiki kerusakan miokardium jantung tikus (*Rattus norvegicus*) yang ditunjukkan dengan perbaikan pada gambaran histopatologi jantung tikus yang diberi perlakuan. Pektin dalam ekstrak daun cincau hijau mampu menghambat absorpsi lemak dalam darah menyebabkan menurunnya timbunan jaringan adiposa yang terbentuk di miokardium sehingga menghambat produksi ROS yang mengakibatkan peroksidasi lipid yang mengarah pada kerusakan jaringan. Selain itu ekstrak daun cincau hijau dapat meningkatkan produksi asam empedu sehingga *intake* lemak yang berlebihan dari induksi HFD akan disintesis dan dibuang bersama dengan feses.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa

1. Pemberian preventif ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) pada hewan model hiperlipidemia tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan HFD meningkatkan aktivitas enzim LPL dan dosis 27g/kgBB/ekor/hari adalah dosis yang paling efektif.
2. Pemberian preventif ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr) pada hewan model hiperlipidemia tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan HFD mencegah diskontinuitas pada otot jantung yang ditandai dengan gambaran histopatologi jantung mendekati kontrol negative dengan dosis efektif adalah 27g/kgBB/ekor/hari.

6.2 Saran

Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui dosis toksik ekstrak daun cincau hijau dan pemanfaatannya terhadap pengobatan maupun preventif penyakit lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi bahan alam*. ITB. Bandung
- Ananda E.A. 2012. *Pengaruh Pemberian Sari Daun Cincau Hijau (Premna oblongifolia Merr) Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan Kolesterol LDL Tikus Sprague Dawley Dislipidemia*. Universitas Diponegoro. Semarang
- Atiqoh, H, R.S. Wardani, dan W. Meikawati. 2011. *Uji Antidiabetik Infusa Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa Linn.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Glukosa*. Staf Pengajar Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Atmarita. 2005. *Nutrition Problems in Indonesia*, in Intergrated International Seminar and Workshop on Lifestyle – Related Diseases. Yogyakarta, 19-20 March. Gajah Mada University, Yogyakarta.
- Dalimarta, S. 2002. *36 Resep Tumbuhan Obat untuk Menurunkan Kolesterol*. Cet. V. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hamosh, M and Paul, H. 2007. *The Effect of Estrogen on the Lipoprotein Lipase Activity of Rat Adipose Tissue*. The Journal of Clinical Investigation. Volume 55. 1132-1135.
- Hanikatiqo. 2010. *Gambaran Pengetahuan Tentang Gizi Pada Anak Balita Berdasarkan Pendidikan Ibu di Desa Karangturi Kecamatan Lasem Kabupaten Rembang*. Universitas Muhammadiyah. Semarang.
- Hernani dan Raharjo, M. 2004. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Husaeni, H.R.K. 2008. *Efek Ekstrak Air Buah Tin (Ficus carica L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus L.) yang Diinduksi Aloksan Monohidrat*. [Tesis]. Program Studi Kimia ITB.

- Juheini. 2013. *Pemanfaatan Herba Seledri (Apium graveolens L.) Untuk Menurunkan Kolesterol dan Lipid Dalam Darah Tikus Putih yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak*. Makara Sains, 6, 65-68
- Katzung, B.G. 2006. *Basic & Clinical Pharmacology*. 10th ed. New York : McGraw-Hill Companies.
- Koike, T., J. Liang., X. Wang., T. Ichikawa., M. Shiomi., G. Liu., H. Sun., S. Kitajima., M. Morimoto., T. Watanabe., N. Yamada dan J. Fan. 2004. *Overexpression of Lipoprotein Lipase in Transgenic Watanabe Heritable Hyperlipidemic Rabbits Improves Hyperlipidemia and Obesity*. *J Biol Chem*. 279:7521-7529.
- Krinke, G.J. 2000. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat*. Academy Press, New York.
- Kurniawati, I. 2010. *Efek Terapi Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana) pada Kasus Dislipidemia*. KTI: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
- Kusonoki, M., K. Tsutsumi, D. Sato, and T. Nakamura. 2012. Lipoprotein Lipase and Obesity. *Health*. 4(12A): 1405-1412
- Kusriningrum, R. S. 2008. *Perancangan Percobaan : Untuk Penelitian Bidang Biologi, Pertanian, Peternakan, Perikanan, Kedokteran, Kedokteran Hewan, Farmasi*. Cetakan Pertama. Airlangga University Press. Surabaya.
- Limantara L. 2009. *Daya Penyembuhan Klorofil*. Malang : Ma Chung Press. ISBN p.1-93
- Matsuda, M. and I. Shimomura. 2013. *Increase Oxidative Stress In Obesity: Implications for Metabolic Syndrome, Diabetes, Hypertensions, Dyslipidemia, Atherosclerosis, and Cancer*. *Obes Rec Clin Pract*. 7(5): 330-341.
- Mindasari, R. 2010. *Studi Aktivitas Antioksidan Pada Pembuatan Tempe Dari Kedelai, Jagung, dan Dedak Padi*. [Skripsi]. Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.

- Murray, R.K., Bender D. A., Botham K. M., Kennelly P.J., Rodwell V. W dan Weil P. A. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 28th ed. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York.
- Nieto, C. G., Barrera R., Habela M. A., Navarrete I., Molina C., Jimenez A dan Serrera J. L., 2006. *Changes in the Plasma Concentrations of Lipids and Lipoprotein Fractions in Dogs Infected With Leishmania infantum*. *J Veterinary Parasitology*. Vol: 44, 175–182.
- Niho, N., M. Mutoh., M. Takahashi., K. Tsutsumi., T. Sugimura dan K.Wakabayashi. 2005. *Concurrent Suppression of Hyperlipidemia and Intestinal Polyp Formation by NO-1886, Increasing Lipoprotein Lipase Activity in Min Mice*. Tokyo: National Cancer Center Research Institute.
- Nur Khoiriyah. 2014. *Formulasi Cincau Jelly Drink (Premna oblongifolia L Merr) Sebagai Pangan Fungsional Sumber Antioksidan*. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 9(2) : 73-80.
- Nurdin S.U, A.S Suharyono, dan S. Rizal. 2008. *Karakteristik fungsional polisakarida pembentuk gel daun cincau hijau (Premna oblongifolia Merr.)*. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*, 13(1), 4-9
- Nurdin, K.A, S.A. Marliyati, F. Anwar, C.M. Kusharto, dan Agungpriyono. 2008. *Pengaruh Pemberian Bubuk Ektrak Cu- Turunan Klorofil Daun Cincau (Premna oblongifolia Merr.) Terhadap Profil Lipid Darah Kelinci*. *Jurnal Media Gizi & Keluarga*, 32(1): 104-114
- Nurkriswanto, W. 2009. *Proses Peroksidasi Lipid Kelinci Hiperlipidemia Pada Pemberian Senyawa Penurun Kolesterol*. IPB. Bogor
- Peter, O dan Kwiterovich J. 2003. *Disorders of Lipid and Lipoprotein Metabolism*. Rudolph's, 21 Edition. London.
- Pragda, S. S., I. J. Kuppast., K. L. Mankani dan L. Ramesh. 2012. *Evaluation of Antihyperlipidemic Activity of Leaves of Portulaca Olearea Linn Against Dexamethasone Induced Hyperlipidemia in Rats*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.
- Priyanto. 2009. *Farmakoterapi dan Terminologi Medis*. Depok

- Rachmawati, A.K. 2009. *Ekstraksi dan Karakterisasi Pektin Cincau Hijau (Premna oblongifolia. Merr) Untuk Pembuatan Edible Film.*
- Rifai, M.H. 2015. *Terapi Preventif Ekstrak Air Daun Cincau Hijau (Premna oblongifolia Merr) Terhadap Ekspresi Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) dan Gambaran Histopatologi Aorta Tikus (Rattus norvegicus) Hiperlipidemia.* Universitas Brawijaya. Malang.
- Rifa'is, M. 2015. *Studi Pengaruh Terapi Ekstrak Krokot (Portulaca oleracea) Terhadap Aktivitas Lipoprotein Lipase dan Gambaran Histopatologi Duodenum Tikus (Rattus norvegicus) Model Hiperlipidemia Hasil Induksi Dexamethasone.* Universitas Brawijaya. Malang
- Rini, S. 2012. *Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Trigliserida Pada Tikus.*[Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sanchez, A.F., E.M. Santillan, M. Bautista, J.E. Soto, A.M. Gonzales, C.E. Chirino, I.D. Montiel, G.S. Rivera, C.V. Vega and J.A.M. Gonzales. 2012. *Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity.* Int J Mol Sci. 12: 3117-3132.
- Shah, S., Gnanasegaran, G., Cohon, J.S., and Buscombe, J.R. 2008. *The Heart: Anatomy, Physiology and Exercise Physiology.* Springer.
- Suyatna, F.D. 2007. *Hipolipidemik.* Dalam S.G Gunawan, R. Setiabudy, Nafrialdi, dan Elysabeth (Ed. Ke-5). *Farmakologi dan Terapi.* Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia., 374-379
- Syah, M. N. 2010. *Daya Serap Pektin Dari Kulit Buah Durian (Durio zibethinus) Terhadap Logam Tembaga dan Seng.* Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Tania S. U, R. Arnianti, H. Hermansyah, dan A. Reza. 2009. *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpur Dari Berbagai Metode Ekstraksi Dengan Uji Anova*

- Tisnadjaja D., P. Simanjuntak, A. Hertati, dan Bustanussalam. 2010. *Pengkajian Efek Hipokolesterolemik Kapsul Monasterol dan Produksi Senyawa Bioaktif Antidiabetes Oleh Kapang Endofit dari Tanaman Obat Indonesia*. Laporan Akhir Program Insentif Peneliti dan Perekayasa LIPI., 9-10.
- Tortora, G.J., Derrickson, B., 2009. *Principles of Anatomy and Physiology*. 12th ed. Hoboken: John Wiley & Sons.
- UPT- LIPI. 2009. *Kolesterol Tinggi*. Pangan & Kesehatan. UPT-Balai Informasi Teknologi LIPI.
- Widayati,E. 2017. *Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioksidan*. Biokimia FK Unissula. Semarang
- Winarsi,H. 2007. *Antioksidan alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta

